

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Zürich
(Direktor: Prof. Dr. W. Löffler)
Arbeit unter Leitung von P.-D. Dr. S. Moeschlin

Untersuchungen über den Einfluß des Cortisons auf die Phagozytose der Leukozyten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von

Wilhelm Zurukzoglu
von Athen (Griechenland)

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. W. Löffler

Z Ü R I C H 1 9 5 3



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41507226_0121

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Zürich
(Direktor: Prof. Dr. W. Löffler)
Arbeit unter Leitung von P.-D. Dr. S. Moeschlin

Untersuchungen über den Einfluß des Cortisons auf die Phagozytose der Leukozyten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von
Wilhelm Zurukzoglu
von Athen (Griechenland)

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. W. Löffler

Dem Andenken meines Vaters,
John Zurukzoglu,
in Dankbarkeit gewidmet.



Inhaltsverzeichnis

	Seite
I Einleitung	5
Phagozytose und Phagozytotechnik	7
II Eigene Versuche	7
Technik	8
III Resultate	11
IV Diskussion	12
V Zusammenfassung	14
VI Literatur	16

Untersuchungen über den Einfluß des Cortisons auf die Phagozytose der Leukozyten

In den hier vorgelegten Untersuchungen wird die Phagozytose der Leukozyten (Granulozyten) unter der Einwirkung von Cortison beim Kaninchen untersucht.

I. Einleitung

ACTH und Cortison ändern, wie heute bereits allgemein bekannt ist, die Reaktion des Organismus gegen Mikroben und deren Toxine, ohne jedoch direkt auf die Keime einzuwirken. Ganz allgemein werden entzündliche oder allergische Gewebsreaktionen unter der Einwirkung dieser beiden Hormone gehemmt oder in ihrer Entwicklung deutlich abgeschwächt. Diese Abwehrreaktionen des Organismus jedoch bilden lokal einen Schutzwall gegen die weitere Propagation des infektiösen Prozesses, wobei unter ACTH- oder Cortisoneinfluß gerade diese lokalen Gefäß- und Zellreaktionen deutlich modifiziert werden (1, 2, 3, 4).

Dies läßt vermuten, daß durch die Anwendung dieser Hormone der Verlauf eines infektiösen Prozesses deutlich verändert werden kann. Gewisse unterschwellige Infektionen mit relativ wenig virulenten Keimen vermögen eine überschießende (hyperergische) Reaktion des Organismus auszulösen, so daß diese Reaktion selbst zur eigentlichen Krankheit werden kann. Durch die therapeutische Anwendung von ACTH und Cortison läßt sich in diesen Fällen diese hyperergische Gewebsreaktion abdämpfen. Auf der anderen Seite jedoch besteht die Möglichkeit, daß sehr virulente Keime zu einer fortschreitenden Infektion führen, wobei eine Hemmung der entzündlichen Gewebsreaktion durch die gleichen Hormone die Propagation des infektiösen Prozesses deutlich zu begünstigen vermag (1, 3, 4). Die klinischen und experimentellen Untersuchungen über die verschiedenen Einflüsse des ACTHs und Cortisons auf das entzündliche Geschehen sind vielfach in ihren Ergebnissen widersprechend (2).

Eine ganze Reihe von klinischen Beobachtungen lassen jedoch zeigen, daß im allgemeinen infektiöse Prozesse unter Cortison- resp. ACTH-Einwirkung ungünstig beeinflusst werden. Tuberkulöse Streuungen (*Mach*), Verschlechterung von Lungentuberkulose (*Freeman et al.*), unterschwellig verlaufende Staphylokokken-Sepsis (*Dubois-Ferrière*) und Pneu-

monien (*Michael, Bunin*), ebenso Peritonitiden (*Beck et al.*) sind mehrfach unter der ACTH- und Cortison-Therapie gesehen worden (1, 3—11).

Im Gegensatz zu diesen, uns bisher bekannten, in der Literatur mitgeteilten Fällen sind andere Autoren (2, 12—18) jedoch der Ansicht, daß die Verschlechterung des infektiösen Prozesses ganz allgemein, der Tuberkulose im speziellen, unter ACTH resp. Cortison nur in Ausnahmefällen beobachtet werden könne und daß unter dieser Hormontherapie höchstens eine geringe Verlängerung der Krankheitsdauer oder wenig ausgeprägte Verschlechterung des klinischen Bildes in Erscheinung trete.

Die tierexperimentellen Untersuchungen zeigen ebenfalls, je nach der versuchten Hormondosis, sehr verschiedene Resultate. In der Regel zeigt sich hier ein ungünstiger Einfluß des ACTHs und Cortisons auf eine experimentell gesetzte Infektion (19—29), doch liegen von anderer Seite auch negative Resultate vor (30—33). Nach *Delaunay, Paraf et Desbordes* findet sich eine ungünstige Beeinflussung von infektiösen Prozessen im Tierversuch nur bei Verwendung von Dosen, die im Verhältnis über den heute therapeutisch bei Menschen verwendeten Mengen liegen (2, 13).

Diese widersprechenden klinischen und tierexperimentellen Beobachtungen führten zur Fragestellung nach dem genauen Wirkungsmechanismus des ACTHs und Cortisons im entzündlichen Geschehen. Die Antikörperbildung soll nach gewissen Autoren durch diese Hormone vermindert (35—38), durch andere (39—45) nicht beeinflusst oder sogar gesteigert werden (40, 41). Die Untersuchungen von *Moeschlin, R. Baguena* und *J. Baguena* (46) und *Moeschlin* und *Forell* (47) haben gezeigt, daß durch ACTH und Cortison gar keine direkte Hemmung der Antikörperproduktion erfolgt, sondern daß durch eine Vorbehandlung oder langdauernde Verabreichung die eigentliche Resorption und Aufnahme der Antigene gehemmt wird. Hierdurch kommt es denn infolge der verminderten Antigenzufuhr zu einer sekundär verminderten Bildung von Antikörpern. Diese Beobachtung führte zu der hier verfolgten Fragestellung wie sich die Phagozytose unter der Einwirkung von Cortison verändert. Dieses Problem ist bis jetzt nur wenig beachtet worden. Es fehlen ausgedehnte systematische experimentelle Arbeiten.

Nach *Glaser, Berry et al.* (27) finden sich in den histologischen Schnitten von experimentell induzierter Streptokokken-Pneumonie auffallend viele Bakterien, jedoch zeigen die wenigen vorhandenen Phagozyten eine an sich normale Phagozytose. Im Gegensatz dazu beobachteten *Kass, Finland et al.* (43—45) im Sputum von mit ACTH behandelten Pneumoniepatienten sehr reichlich Pneumokokken, viele Polynukleäre mit jedoch sehr geringer Phagozytose.

Das Phänomen der Phagozytose wurde durch die klassischen Arbeiten von *Metchnikoff* entdeckt (1882).

Als „Phagozytose“ bezeichnen wir die Erscheinung, daß gewisse Zellen des tierischen Organismus kleine Partikel, einschließlich Mikroorganismen, ergreifen und in ihr Protoplasma einführen und nach Möglichkeit verdauen. *Wright* und *Douglas* und *Neufeld* erkannten, daß die Phagozyten ihre Tätigkeit gegenüber Krankheitserregern gewöhnlich erst dann ausüben, wenn die Erreger durch bestimmte im Blutserum vorhandene unspezifische (Opsonine) und spezifische (Bakteriotropine) gelöste Stoffe für die Aufnahme von den Phagozyten empfänglich gemacht worden sind. Wegen dieser Entdeckungen und der Schwierigkeiten der Phagozytotechnik war die Bedeutung einer „zellulären Immunität“ in den folgenden Jahren in den Hintergrund getreten. In den letzten Jahren ist das Interesse für die Phagozytose durch Verbesserung der Untersuchungsmethoden und durch die Entdeckung des Phänomens der „Oberflächenphagozytose“ (*Oerskov*, „surface phagocytosis“ von *Wood*) wegen seiner Bedeutung für den Abwehrmechanismus des Körpers wieder mehr in den Vordergrund klinischen Interesses gerückt.

Die Phagozyten des Menschen und der höheren Tiere bestehen aus beweglichen und unbeweglichen Zellen. Die beweglichen werden einerseits von den Neutrophilen = Mikrophagen, weniger von den Monozyten, Eosinophilen und evtl. Basophilen des Blutes und andererseits von den Markophagen der Gewebe repräsentiert.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Phagozytoseaktivität der Phagozyten des peripheren Blutes beim Kaninchen untersucht.

Die Leukozyten des Blutes beim Kaninchen bestehen aus Lymphozyten, Monozyten, Basophilen, Eosinophilen und Polynukleären, sog. Pseudo-eosinophile, weil ihre Granula meistens eosinophil, aber nicht so groß, dicht und tiefrot sind, wie bei den echten Eosinophilen (55, 56).

II. Eigene Versuche

Wir arbeiteten mit 20 Kaninchen, welche in zwei Gruppen von je 10 Tieren aufgeteilt wurden.

Erste Gruppe: 10 Kaninchen, jedes von ca. 2 kg Körpergewicht. Allen haben wir eine Woche lang 20 mg Cortison täglich, in zwei Dosen verteilt, subkutan gespritzt (10 mg pro 1 kg Körpergewicht). Am Ende der ersten Woche wurden 6 von diesen 10 Tieren für weitere 14 Tage 10 mg

Cortison täglich (wieder in zwei Dosen) verabreicht (insgesamt 21 Tage). Wir stellten nun Phagozytoseversuche an vor dem Beginn der Behandlung und am Ende der ersten, zweiten und dritten Woche.

Zweite Gruppe: 10 Kaninchen zwischen 2 und 3,5 kg Körpergewicht. Diese erhielten 10 mg Cortison pro kg Körpergewicht täglich, auf zwei Dosen verteilt, subkutan gespritzt (20—35 mg Cortison täglich), und zwar 5 Kaninchen während 7 Tagen und die anderen 5 während 21 Tagen. Die Phagozytoseversuche wurden in beiden Gruppen nach der gleichen Technik durchgeführt.

Technik

Nach dem Studium verschiedener Phagozytosemethoden der Literatur (57—72) und nach zahlreichen Vorversuchen mit menschlichem Blut und Kaninchenblut haben wir die folgende Technik entwickelt:

Wir benützen für jeden Versuch zwei graduierte Glasröhrchen von 6 cm Höhe und 1,3 cm Durchmesser, welche mit einer Silikonlösung vorbehandelt werden, um eine Haftung der Leukozyten an den Rohrwandungen zu verhindern (1 Teil Silikon in 8 Teilen Toluol). In jedes Röhrchen geben wir 0,1 ccm einer frischen Heparinlösung in isotonischer Kochsalzlösung (50 Einheiten Liquemin „Roche“ in 1 ccm, also 5 Einheiten in 0,1 ccm). Nachdem durch Erwärmung eine gute Vasodilation des Kaninchenohres erzielt worden ist, punktieren wir für gewöhnlich die mittlere Ohrvene mit einer Nadel, die vorher ebenfalls mit derselben Heparinlösung durchspült wurde. Das Blut fließt hierdurch tropfenweise ab und kommt nicht mit der Haut in Berührung. Wir lassen die ersten Tropfen des Blutes abtropfen und fangen erst die folgenden im Röhrchen auf, wobei sie die Wandung desselben nicht berühren sollen. Durch sehr leichte Rotationsbewegungen mischen wir das Blut mit dem Heparin, während das Blut bis zum Zeichen 0,9 ccm weiter eintropft. Gleichweise füllen wir das zweite Röhrchen, welches als Kontrolle dient. Aus der selben Stichstelle werden durch Doppelbestimmung die Leukozytenzahl ermittelt und Deckglasausstriche angefertigt. Die zwei Röhrchen werden mit Kautschukzapfen verschlossen, welche mit den Glaswänden, ohne einen freien Raum zu lassen, in Berührung kommen. Die Röhrchen werden dann in den Brutschrank gebracht.

Die Zeit zwischen Blutentnahme und Mischung des Blutes mit den Mikroben hielten wir jeweils bei jedem Kaninchen konstant. Gewöhnlich schwankte sie zwischen 45 und 50 Min. Während diesem Zeitraum zählten wir die Leukozyten und bestimmten das Differentialblutbild. Parallel damit stellten wir die Mikrobenaufschwemmung nach der folgenden Methode her:

Benötigt werden eine 24 Std. alte Bouillonkultur von *Staphylococcus aureus* „Stamm Oxford“ und Erlenmeyerflaschen von 50 ccm, welche auf dem Boden je 5 ccm sterilen festen Agar enthalten. Am vorherigen Nachmittag eines Versuchstages werden 0,5 ccm dieser Bouillonkultur auf die Oberfläche des Agars pipettiert und die Flasche in den Brutschrank gestellt. Nach ungefähr 18 Stunden enthält diese Agarkultur eine für unsere Versuche ausreichende Zahl von Staphylokokken. Nach der Blutentnahme werden 10 ccm einer isotonischen Kochsalzlösung und 200 sterile Glasperlen (mit einem Diameter von 3—4 mm) auf die Agarkultur gegeben und der Kolben mit der Hand 5 Min. lang ruhig rotiert. Auf diese Art werden die Staphylokokken aus der Agaroberfläche in die isotonische Kochsalzlösung abgelöst. Diese Methode der Bereitung der Mikrobenaufschwemmung ist von G. E. Davies (72) eingeführt worden, welcher auch gezeigt hat, daß auf diese Weise die 85—97% der Staphylokokken vereinzelt oder in Paaren gewonnen werden, was für die Phagozytoseversuche wichtig ist.

Unmittelbar nach der Rotation werden 1,0 ccm der Staphylokokkenaufschwemmung in ein Röhrchen entnommen und aus diesem dann mit zwei Erythrozytenpipetten bis zum Zeichen 0,5 aufgezogen und dann bis zum Zeichen 101 mit steriler physiologischer Kochsalzlösung gefüllt. Die zwei Pipetten werden 5 Min. lang gut geschüttelt und dann die Staphylokokken in einer Zählkammer ausgezählt. Für diesen Zweck haben wir eine spezielle Kammer von nur 0.02 mm Höhe (Firma „Hawksley“)* benützt. Die Auszählung gelingt am besten mit Hilfe des Phasenkontrastmikroskops, wofür hier das sehr kontrastreiche „Wild“-Mikroskop benützt wurde.

Nun wird die Staphylokokkenaufschwemmung so eingestellt, daß jeweils auf einen Phagozyten 20 Staphylokokken entfallen (0,8 ccm Blut + 0,08 Staphylokokkenaufschwemmung). Das wird auf folgende Weise erreicht: Die Zahl der Staphylokokken pro 1 cmm wird dividiert durch die 200fache

Staph.

Zahl der Phagozyten pro 1 cmm: $\frac{\text{Staph.}}{\text{Phag} \times 200}$. Der Quotient gibt an, auf

wieviel ccm wir 1 ccm der Ausgangsaufschwemmung verdünnen müssen, z. B. Phagozytenzahl 3 000 pro cmm, Staphylokokkenzahl der Ausgangsaufschwemmung 1 800 000 pro cmm. Wir möchten 20 Staph. pro 1 Phag. erhalten: wir multiplizieren die Phagozytenzahl 3 000 mit 200, nicht mit 20, weil das Verhältnis der Quantitäten Staphylokokkenaufschwemmung: Blut nicht 1 : 1, sondern 1 : 10 ist (0,08 : 0,8). Wir müssen also zehnmal mehr Staphylokokken zugeben: $3\,000 \times 200 = 600\,000$. Wir dividieren die Staphylokokkenzahl 1 800 000 durch 600 000 und wir bekommen den

* 17, New Cavendish Street, London

Quotienten 3. Wir nehmen also 1 ccm der Stammaufschwemmung, geben 2 ccm isotonischer Kochsalzlösung zu (Gesamtmenge 3 ccm), mischen 3 Min. lang gut durch und erhalten so die gesuchte Aufschwemmung. Mit einer 0,1-ccm-Pipette nehmen wir je 0,08 ccm der Flüssigkeit und bringen sie vorsichtig, zur Vermeidung von Luftblasen, auf die Oberfläche des Blutes in den zwei Röhrchen. Wir drehen langsam fünfmal unsere zwei Röhrchen auf den Gummistopfen, um eine gute Mischung der Staphylokokken mit dem Blut zu erreichen und mischen nachher weiter 3 Min. lang folgendermaßen: Wir umschließen beide Röhrchen (Öffnung nach oben) mit der rechten Hand, die samt dem Unterarm auf einem Tisch aufliegt, und machen Supinations- und Pronationsbewegungen um je 45° , bezogen auf die Achse des Röhrchens, und zwar je 150mal in 3 Min. (50 pro Min.). Anschließend werden die beiden Röhrchen im Brutschrank 15 Min. bebrütet. 15 Min. nach dem Zusatz der Staphylokokken wird eine zweite Mischung hergestellt (fünf Umdrehungen auf den Gummistopfen, 3 Min. Mischung) und die Röhrchen ebenfalls in den Brutschrank verbracht. Genau 30 Min. nach Zugabe der Staphylokokkenaufschwemmung nehmen wir die zwei Röhrchen heraus und kippen erneut das erst fünfmal um 180° , damit eine gleichmäßige Verteilung der Leukozyten erzielt wird. In eine durch Silikonlösung vorbehandelte Leukozytenpipette wird nun eine kleine Quantität Blut aufgezogen und die Deckglasausstriche angefertigt. Für neue Ausstriche wird jedesmal eine neue kleine Quantität Blut aufgezogen, um zwei neue Präparate auszustreichen bis zu einer Gesamtzahl von 10—12 Präparaten. Unmittelbar nach diesem Arbeitsgang, welcher ungefähr 3 Min. dauert, wird die gleiche Prozedur mit dem Blut des Kontrollröhrchens durchgeführt. Die Präparate werden mit der kombinierten May-Grünwald-Giemsa-Färbung gefärbt.

Phagozytose-tätigkeit: Um die Größe der Phagozytose-tätigkeit der Leukozyten in unseren Versuchen zu beurteilen, bestimmten wir den Prozentsatz der Phagozyten, welche eine positive Phagozytose zeigen (Hamburger'sche Methode). Zu diesem Zweck benützten wir 4 Ausstriche aus dem ersten und 4 aus dem zweiten Röhrchen, zählten 100 polynukleäre Zellen in jedem Ausstrich (d. h. im ganzen 800 Zellen) und notierten die auf je 100 Polynukleäre entfallenden Zellen, welche Bakterien phagozytiert haben.

Als Phagozyten zählten wir die Polynukleären („Pseudoeosinophile“ des Kaninchens) und die Eosinophilen (wirkliche Eosinophile des Kaninchens). Um Fehler zu vermeiden, wurden Monozyten und Basophile nicht zu den Phagozyten gezählt, denn es ist manchmal schwierig, einerseits die Monozyten von den lymphatischen Zellen des Kaninchens einwandfrei zu unterscheiden, und andererseits noch schwieriger, die Staphylokokken von der Körnelung der Basophilen zu differenzieren.

III. Resultate

Die Resultate unserer Experimente werden in den Tabellen A und B zusammengefaßt.

Kaninchen												Mittelwerte		
Nr.		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	I-X	V-X	VI-X
Tag der Behandlung mit Cortison	0	84	75	69	85,5	85	85	76	76	68	70	77,3	76,6	75
	7	83	79,5	85,5	75	52?	84	83,5	65,5	66	63	74,2	/	/
	14	/	/	/	/	75,5	83	84	80,5	72	71	/	77,6	/
	21	/	/	/	/	+	84	75	75,5	70	78	/	/	76,5

Tabelle A

Erste Gruppe (siehe Tabelle A) : Nach einer Woche Cortisonbehandlung konnten wir, mit Ausnahme des Kaninchens V, keine nennenswerte Verminderung der Phagozytoseetätigkeit beobachten. Das Kaninchen V zeigte eine deutliche aber vorübergehende Verminderung seiner Phagozytoseetätigkeit, um -33% . Diese war nicht konstant und vielleicht war sie durch einen technischen Fehler bedingt, weil wir am Ende der zweiten Woche wieder eine Phagozytoseetätigkeit von $75,5\%$ fanden. Leider starb das Tier am 15. Tag der Behandlung infolge Fremdkörperaspiration und so konnte seine Phagozytoseetätigkeit (PhT) nicht weiter verfolgt werden. Bei den 9 anderen Kaninchen zeigten sich nach einer Woche gleichmäßige Schwankungen nach unten oder nach oben, die sich von $-10,5\%$ bis $+16\%$ erstreckten. Die Mittelwerte der Phagozytoseetätigkeit der Kaninchen I bis X sind ungefähr gleich: $77,3\%$ bzw. $74,2\%$. Diese kleine Differenz von $-3,1\%$ war durch das Kaninchen V bedingt, weil, wenn seine Werte ausgeschlossen werden, die Mittelwerte $76,5\%$ bzw. $76,6\%$ betragen. Bei allen 6 Kaninchen zeigte sich nach zwei Wochen Cortisonbehandlung keine deutliche Verminderung der PhT. Wieder bemerkten wir gleichmäßige Schwankungen von $-10,5\%$ bis $+8\%$. Die Mittelwerte waren auf hier ungefähr gleich: $76,6\%$ bzw. $77,6\%$.

Auch nach drei Wochen Cortisonbehandlung trat keine Verminderung der PhT ein (siehe Tabelle A) und Schwankungen von -1% bis $+8\%$. Die Mittelwerte waren auch hier ungefähr gleich: 75% bzw. $76,5\%$.

Kaninchen Nr.			XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	Mittelwerte	
													XI-XX	XVI-XX
Tag der Behandlung mit Cortison	0	Phagozytose o/o	85	80	86	82,5	89,5	78	88,5	94	81	82	84,6	84,6
	7		79	85	87	87	88	93	92,5	88,5	82	85,5	86,7	/
	14		/	/	/	/	/	92,5	86	86,5	78	71	/	82,8
	21		/	/	/	/	/	87,5	77	88	83,5	90	/	82,5

Tabelle B

Zweite Gruppe (siehe Tabelle B): Am Ende der ersten Woche der Cortisonbehandlung fand sich bei allen 10 Kaninchen keine deutliche Verminderung der PhT. Die Schwankungen erstreckten sich von $-6,5\%$ bis $+15\%$. Die Mittelwerte waren ungefähr gleich: $84,6\%$ bzw. $86,7\%$. Ebenso zeigte sich bei allen 5 Tieren nach zwei Wochen Behandlung keine Beeinträchtigung der PhT. Die Schwankungen nach oben und nach unten waren gleichmäßig: -11% bis $+14,5\%$. Mittelwerte wieder ungefähr gleich: $84,6\%$ bzw. $82,8\%$.

Auch nach drei Wochen Cortisonbehandlung war keine Veränderung, d. h. weder eine Verminderung noch eine Zunahme der Phagozytoseaktivität bei allen 5 Tieren festzustellen. Es fanden sich wieder gleichmäßige Schwankungen nach oben und unten, d. h. von $-11,5\%$ bis $+11,5\%$ bei unveränderten gleichen Mittelwerten von $84,6\%$ bzw. $85,2\%$.

Die mittleren Phagozytosewerte in der zweiten Gruppe liegen ungefähr 10% höher als die der ersten Gruppe. Die Ursache dafür war eine Differenz in der Mischungstechnik, nämlich bei der zweiten Gruppe haben wir unsere zwei Röhrchen fünfmal auf den Gummistopfen gedreht (am Anfang und in der Mitte des Versuches), was zu einer gleichmäßigeren Mischung und folglich zu einer stärkeren Phagozytose führte.

IV. Diskussion

Es ist auch heute noch relativ schwierig, Phagozytoseergebnisse zu vergleichen, die sich beim Arbeiten mit Zellen verschiedener Individuen, oder in verschiedenen Zeitabständen vom selben Individuum entnommen, ergeben, da zahlreiche Faktoren diese Ergebnisse verschiedenartig beeinflussen können. Auf diese Weise lassen sich die sehr häufig widersprechenden Angaben

der Literatur verstehen. Diese technischen Schwierigkeiten sind die Ursache dafür, daß die Phagozytose als biologische Methode meistens vernachlässigt worden ist (52, 72). Nur durch die verbesserte Phagozytose-technik der letzten Jahre kann man mehr glaubwürdige vergleichbare Resultate erhalten. Um in unseren Versuchen zu vergleichbaren Resultaten zu kommen, haben wir uns bemüht, eine Phagozytosemethode zu entwickeln, bei der alle Faktoren, welche unsere Versuche irgendwie beeinflussen könnten, konstant gehalten werden. Vor allem haben wir das zahlenmäßige Verhältnis der Staphylokokken zu den Phagozyten immer konstant gehalten, weil die Arbeiten von *Jung* (58, 61) und insbesondere von *Hanks* (64) gezeigt haben, daß sonst keine vergleichbaren Resultate zu erzielen sind.

In unseren Versuchen wurden 20 Staphylokokken pro Phagozyt zugesetzt, aus folgenden Gründen:

1. *Hanks* hat ferner gezeigt (64), daß wenn das Verhältnis der Mikroben zu den Phagozyten konstant bleibt, aber sich die absolute Zahl der Phagozyten und Mikroben vergrößert, der Prozentsatz der Phagozytose ebenfalls zunimmt. Man nehme das folgende Beispiel: Wenn man ein Verhältnis von 10 Staph. pro. Phag. bei total 3 000 Phag. pro cmm herstellen will, so geben wir 30 000 Staph. pro cmm hinzu. Wenn wir aber in einem zweiten Versuch nach einigen Tagen 4 000 Phagozyten pro cmm finden und wir entsprechend 40 000 Staphylokokken in einem cmm hinzugeben, um wieder das gleiche Verhältnis von 10 : 1 herzustellen, so führt doch die Vermehrung der absoluten Staphylokokken- und Phagozyten-Zahl zu einer gewissen Zunahme der Phagozytose. Dieser Fehler wird aber umso kleiner, je höher das Verhältnis von Staph. zu Phag. liegt. Bei dem von uns gewählten Verhältnis von 20 : 1 wird dieser Fehler sehr klein (*Hanks*).

2. Bei einer zu kleinen Anzahl von Mikroben kann eine Verminderung der Phagozytose dadurch eintreten, daß nicht alle Staphylokokken gleichmäßig zwischen den Phagozyten suspendiert sind und einige, sonst zu Phagozytose fähige Zellen nicht phagozytieren können. Diesen Fehler haben wir hier durch große Mikrobenmenge weitgehend vermindert.

In unseren Versuchen fanden wir, daß, wenn während einer relativ längeren Zeit beim Kaninchen hohe Cortisondosen (10 mg pro kg) verabreicht werden, keine deutliche Verminderung der Phagozytose-tätigkeit der Leukozyten festzustellen ist. Auch bei einer höheren dreiwöchigen Cortisondosierung (zweite Gruppe) haben wir keine Verminderung der PhT gesehen. Man darf also auf jeden Fall daraus schließen, daß eine Verminderung der Resistenz gegenüber Infekten unter Cortison (1, 3—11, 19—29) nicht auf eine verminderte Phagozytose-tätigkeit der Granulozyten zurückzuführen ist. Da aber alle Untersucher (11, 27, 74) sich darüber einig sind, daß unter der

Cortisonwirkung in den Entzündungsherden auffallend wenig Leukozyten und Makrophagen vorzufinden sind, so ist anzunehmen, daß die Herbeilockung von Leukozyten (Chemotaxis) und vielleicht auch die Bildung von Makrophagen durch Cortison irgendwie gehemmt wird (*Moerschlin, Zurukzoglu und Crabbé*). Schon die Abschwächung der lokalen entzündlichen Gefäßreaktion durch dieses Hormon kann auch die Wanderung der Phagozyten nach der Infektionsstelle herabmindern oder abschwächen, was einer sekundären Verminderung der Phagozyten und damit der total erfolgenden Phagozytose entsprechen würde.

Diese Hypothese wurde durch unsere hier mitgeteilten Befunde unterstützt, ebenso durch die Befunde von *Glaser, Berry und Wood* (27). Diese Autoren fanden histologisch bei Tieren, die an experimentellen Streptokokkenpneumonien, unter Cortisonbehandlung, gestorben waren, in den pneumonischen Herden ungewöhnlich zahlreiche Mikroben, doch bei sehr wenig Phagozyten. Diese vereinzelt Zellen zeigten aber eine normale Phagozytose. *Bunim* (11) sah bei einem Patienten, der während einer lang dauernden Cortison-
ACTH-Behandlung an einer symptomlosen Pneumonie verstarb, in der Lunge ebenfalls zahlreiche Pneumokokken und sehr seltene Polynukleäre. Es darf also abschließend gesagt werden, daß unsere Versuchsergebnisse und die hier zitierten Beobachtungen, bei unter Cortison- und ACTH-Behandlung auftretenden akuten Infekten, die Schlußfolgerung zulassen, daß unter Cortison und ACTH die Phagozytose der Bakterien nicht durch eine direkte Schädigung der Phagozytosefähigkeit dieser Zellen behindert wird, sondern vielmehr durch eine fehlende Herbeilockung und Bildung solcher Zellen (Granulozyten und Makrophagen).

V. Zusammenfassung

1. Um den Einfluß des Cortisons auf die Phagozytose-tätigkeit der Leukozyten (Granulozyten) zu studieren, haben wir bei zwanzig mit hohen Cortisondosen behandelten Kaninchen Phagozytoseversuche durchgeführt.
2. Relativ große Cortisonmengen (10 mg/kg Körpergewicht täglich), die bis zu drei Wochen lang verabreicht wurden, verursachten keine Verminderung der Phagozytose-tätigkeit der Leukozyten (Phagozytose von *Staphylococcus aureus*).
3. Es wird diskutiert, ob bei unter Cortison auftretenden akuten Infekten eine indirekte Verminderung der Phagozytose im Rahmen einer Hemmung der entzündlichen Reaktionen vorliegt, d. h. durch einen infolge der Hormonwirkung stark verminderten Zustrom von an und für sich normal phagozytose-fähigen Zellen.

Curriculum vitae

Am 20. Dezember 1921 wurde ich in Paris geboren. Primarschule und Gymnasium besuchte ich in meiner Heimatstadt Athen. Maturität 1938. Mein ganzes sechsjähriges Medizinstudium absolvierte ich von 1938—1946 an der Universität Athen, wobei das Studium durch Kriegsverhältnisse längere Zeit unterbrochen wurde. Das Staatsexamen bestand ich am 30. Mai 1946. Oktober 1946 bis Juli 1951 Assistententätigkeit an der 3. Med. Klinik (Prof. Dr. *Komminos*) und an der angegliederten hämatologischen Abteilung (P.-D. Dr. *Bakalos*) des „Evangelismos“-Spitals in Athen. Vom 1. September bis Mitte Oktober 1951 arbeitete ich in der Tbc.-Abteilung des Tiefenaspitals in Bern (Dr. *Kipfer*), vom 15. Oktober 1951 bis 15. November 1952 als Gastassistent an der Med. Universitätsklinik Zürich (Prof. Dr. *Löffler*). Seit dieser Zeit bin ich als Gastarzt an der Med. Universitätsklinik Freiburg (Breisgau) tätig (Prof. Dr. *Heilmeyer*).

Herrn Prof. Dr. W. *Löffler* danke ich herzlich, daß er mir die Gelegenheit gegeben hat, an seiner Klinik zu arbeiten. Herrn P. D. Dr. S. *Moeschlin* danke ich ferner für die Überlassung des Themas der vorliegenden Arbeit sowie für seine wertvollen Anregungen. Auch Herrn Prof. Dr. H. *Mooser* (Direktor des Hygiene-Institutes) und Herrn Prof. Dr. A. *Grumbach* bin ich für die freundliche Zurverfügungstellung der Staphylokokkenkulturen sehr dankbar, ebenso Frau Dr. Fr. *Marti*, Hygiene-Institut, meiner Frau, Dr. S. *Zurukzoglu*, den Herren Dr. J. *Crabbé*, E. *Schmid* und E. *Schwarz*.

VI. Literatur

1. *Mach, R. S.*: Indications, contre-indications et dangers de traitement à l'ACTH et la cortisone. Schweiz. med. Wschr. 1951, 81, 155.
2. *Delannay, A.*: La cortisone mérite-t-elle d'être considérée comme un agent pro-infectieux? Presse Méd. 1951, 70, 1455.
3. *Dubois-Ferrière, H.*: Le danger d'infection lors de traitement prolongé par l'ACTH et la cortisone. Praxis 1950, 45, 974.
4. *Dubois-Ferrière, H.*: Le risque d'infection au cours de traitements prolongés par la cortisone et l'ACTH. Presse Méd. 1951, 22, 442.
5. *Freeman, S., Fershing, J., Wang, C. C. and Smith, L. C.*: The effect of ACTH on patients with pulmonary tuberculosis. Proceedings of the first clinical ACTH conference 1950, p. 509. Philadelphia, the Blakiston company.
6. *Fershing, J., Freeman, S., Wang, C. C. and Smith, L. C.*: The effect of ACTH on patients with pulmonary tuberculosis. J. Lab. and clin. Med. 1950, 36, 820.
7. *Hollander, J. H.*: Proceedings of the second clinical ACTH conference. 1951, II, 368. Philadelphia, the Blakiston company.
8. *Lancet* 1950, 25 November, 632. Cortisone and ACTH in Tuberculosis Editorial.
9. *Beck, J. C., Browne, J. S. L., Johnson, L. G., Kennedy, B. J. and Mackenzy, D. W.*: Occurrence of peritonitis during ACTH administration. Can. Med. Ass. Journ. 1950, 5, 423.
10. *Michael, M. Jr.*: Wird von Glaser et al. (27) referiert.
11. *Bunim, J. J.*: Proceedings of the second clinical ACTH conference 1951, I, 482. Philadelphia, the Blakiston company.
12. *Harvier, P., Coste, F., Turiaf, F., Delbarre, F., Basset, G. et Caramanian:* Le traitement par l'ACTH des états de mal asthmatiques prolongés, étude clinique et biologique de 12 cas. Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 1950, 66, 1438.
13. *Paraf, J. et Desbordes, J.*: Cortisone, ACTH et tuberculose. Presse Méd. 1951, 11, 206.
14. *Hahn, E. O., Houser, H. R., Ramelcamp, C. H. Jr., Denny, F. W. and Wannemaker, L. W.*: Effect of cortisone on acute streptococcal infections and poststreptococcal complications. J. clin. Invest. 1951, 30, 274.
15. *Corriel, L. L., Siegel, A. C., Cook, Ch. D., Murphy, L. and Stokes, L. Jr.*: Use of pituitary adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in poliomyelitis. J. A. M. A. 1950, 142, 1279.
16. *Le Maistre, Ch. A., Tompsett, R., Muschenheim, C., Moore, J. A. and Mc Dermott, W.*: Effects of adrenocorticotrophic hormone and cortisone in patients with tuberculosis. Proceedings of the second clinical ACTH conference. 1951, II, 363. Philadelphia, the Blakiston company.

17. *Browne, J. S. L.*: Proc. second clin. ACTH conference 1951, II, 369.
18. *Thorn, G. W.*: Proc. second clin. ACTH conference 1951, II, 370.
19. *Michael, M. Jr., Cummings, M. M. and Bloom, W. L.*: Course of experimental tuberculosis in the albino rats as influenced by cortisone. Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 1950, 75, 613.
220. *Spain, D. M. and Molomut, N.*: Effects of cortisone on the development of tuberculos lesions in guinea pigs and on their modification by streptomycin therapy. Am. Rev. Tuberc. 1950, 62, 337.
21. *Hart, P. d'Arcy and Rees, R. J. W.*: Enhancing effect of cortisone on tuberculosis in the mouse. Lancet 1950, 23 Sept., 391.
22. *Mogabgab, W. J. and Thomas, L.*: The effects of cortisone on experimental infection with group A streptococci in rabbits. J. Lab. and clin. med. 1950, 36, 968.
23. *Klingman, A. M., Baldridge, G. D., Rebell, G. and Pillsbury, D. M.*: The effects of cortisone on the pathologic responses of guinea pigs infected cutaneously with fungi viruses and bacteria. J. Lab. and clin. Med. 1951, 37, 615.
24. *White, R. G. and Marshall, A. H. E.*: Effect of cortisone in pneumonococcic bacteremia. Lancet 1951, 21 April, 891.
25. *Solotorovsky, M., Gregory, F. J. and Stoerk, H. C.*: Loss of protection by vaccination following cortisone treatment in mice with experimentally induced tuberculosis. Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 1951, 76, 286.
26. *Schwartzmann, G.*: Enhancing effect of cortisone upon poliomyelitis infection (strain M. E. F.), in hamsters and mice. Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 1950, 75, 835.
27. *Glaser, P., Berry, J. W., Loeb, L. H. and Wood, W. B.*: The effect of cortison in streptococcal lymphadenitis and pneumonia. J. Lab. and clin. Med. 1951, 38, 363.
28. *Turner, T. B. and Hollander, D. H.*: Cortisone in experimental syphilis; a preliminary note. Bull. of J. Hopkins Hosp. 1950, 87, 50.
29. *Redaelli, P., Cavallero, C., Borasi, M., Sala, G. et Amira, A.*: Effeto del cortisone sulla granulomatosi coccidioide sperimentale. Experientie 1951, 7, 108.
30. *Vollmer, E. P.*: The course of pneumococcal infections in mice during treatment with antibacterial substances and adrenocortical extract. J. infect. Dis. 1951, 88, 27.
31. *Lurie, M. B., Zappasodi, P., Dannenberg, A. M. Jr., and Schwartz, I. B.*: Constitutional factors in resistance to infection: The effect of cortisone on the pathogenesis of tuberculosis.
32. *Milzer, A.*: Effect of pituitary adrenocorticotrophic hormone (ACTH) on experimental poliomyelitis and equine encephalitis. J. Infect. Dis. 1951, 88, 54.

33. *Javier Robles Gil, Perrin, M., and Balcazar:* Action of adrenocortiotrophic hormone in Chagas disease. Proceedings of the second clinical ACTH conference. 1951, I, 468. Philadelphia, the Blakiston company.
34. *Vaughan, J. H., Bayles, T. B. and Favour, C. B.:* Effect of 17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone and adrenocorticotrophic hormone upon plasma gamma globulin, fibrinogen and erythrocyte sedimentation rate. Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 1951, 76, 274.
35. *Germuth, F. G., and Ottinger, B.:* Effect of compound E and of ACTH on Arthus reaction and antibody formation in the rabbit. Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 1950, 74, 815.
36. *Germuth, F. G., Oyama, J., Ottinger, B.:* The mechanism of action of 17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone (compound E) and of the adrenocorticotrophic hormone in experimental hypersensitivity in rabbits. J. exper. Med. 1951, 94, 139.
37. *Fischel, E. E., Le May, M., and Kabat, E. A.:* The effect of adrenocorticotrophic hormone and X-ray on the amount of circulating antibody. J. Immunol. 1949, 61, 89.
38. *Bjornebe, M., Fischel, E. E., and Stoerk, H. C.:* The effect of cortisone and of adrenocorticotrophic hormone on the concentration of circulating antibody. J. exper. Med. 1951, 93, 37.
39. *Herbert, P. H., and de Vries, J. A.:* The administration of adrenocorticotrophic hormone to normal human subjects. The effects on the leucocytes in the blood and on circulating antibody levels. Endocrinology 1949, 44, 253.
40. *Mirick, G. S.:* The effect of adrenocorticotrophic hormone and cortisone on antibody production in human beings. J. clin. Invest. 1950, 29, 836.
41. *Mirick, G. S.:* The effects of ACTH and cortisone on antibodies in human beings. Bull. J. Hopkins Hosp. 1951, 88, 332.
42. *Massel, B. F., Phace, E. H., Sturgis, G., Prizer, M., Knobloch, J. D., and Chang-Shih-Man:* Effect of ACTH on the antistreptolysin and gamma globulin response to hemolytic streptococcal infection (scarlet fever) and on the development of poststreptococcal sequelae. Proceedings of the second clin. ACTH conference. 1951, I, 486, the Blakiston company.
43. *Finland, M., Kass, E. H., and Ingbar, S. H.:* Effects of ACTH in primary atypical (viral) pneumonia and in pneumococcal pneumonia (Preliminary report). Proceedings of the first clinical ACTH conference. 1950, p. 529. Philadelphia, the Blakiston company.
44. *Kass, E. H., Ingbar, S. H., and Finland, M.:* Effects of adrenocorticotrophic hormone in pneumonia: Clinical, bacteriological and serological studies. Annals int. Med. 1950, 5, 1081.
45. *Finland, M., Kass, E. H., and Ingbar, S. H.:* Further observations on the effects of ACTH in acute infections. Proceedings of the sec. clin. ACTH conf. 1951, I, Philadelphia, the Blakiston company.
46. a) *Moeschlin, S., Baguena, R., and Baguena, J.:* The influence of ACTH and cortisone on the experimental antibody production in rabbits. Proceedings 3rd Internat. Congress of Hematology, Buenos Aires 1952.

- b) *Idem*: Influence of ACTH and cortisone on the antibody production and the plasma cell reaction. Bull. Acad. Suisse Sciences Médic. 1952, 8, 153.
47. *Moeschlin, S., und Forell, M. M.*: Untersuchungen über den Einfluß des ACTHs und Cortisons auf die exper. Antikörperbildung. Helv. Med. Acta 1952, 19, 351.
48. *Boivin, A., et Delaunay, A.*: Phagocytes, phagocytose et défense de l'organisme contre les infections. Experientia 1945, 8, 262.
49. *Bruynoghe, R., et Bruynoghe, G.*: L'immunité et ses applications. 6ème édition, 1946, Louvain, Ch. Wylstruyt éditeur.
50. *Gundel, M., und Schürman, W.*: Lehrbuch der Mikrobiologie und Immunbiologie. 2. Aufl., 1939, Berlin, Springer-Verlag.
51. *Gundel, M.*: Die ansteckenden Krankheiten. 2. Aufl., 1935, Leipzig, Thieme-Verlag.
52. *Topley and Wilson*: Principles of bacteriology and immunity. 3rd edition. London, Edward Arnold.
53. *Dubos, R. J.*: Bacterial and mycotic infections of man. 1948, Philadelphia, Lippincott.
54. *Mudd, S., Mc Cutscheon, M., and Lucke, B.*: Phagocytosis. Physiological Review. 1934, 14, 210.
55. *Wintrobe, M. M.*: Clinical hematology, 3rd edition. 1951, Philadelphia, Lea and Febiger.
56. *Pei-Shen-Chen*: Studies on leucocytes in rabbits with special reference to eosinophils. Unpublished data.
57. *Jakobstal, E.*: Über Phagozytoseversuche mit Myeloblasten, Myelozyten und eosinophilen Leukozyten (mit Bemerkungen über den feineren Bau der eosinophilen Myelozyten). Virchow's Arch. 1921, 234, 12.
58. *Jung, R. W.*: Correlation between number of leucocytes and phagocytosis. Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 1932, 29, 981.
59. *Boerner, F., and Mudd, S.*: Determination of the phagocytic activity of the whole blood or plasma-leucocytes mixtures for clinical or experimental purposes. Amer. J. med. Sci. 1935, 189, 22.
60. *Strumia, M. M., and Boerner, F.*: Phagocytic activity of the circulating cells in the various types of leukemia. Amer. J. Pathol. 1937, 13, 335.
61. *Jung, R. W.*: The importance of leucocytic counts in phagocytic tests. J. Lab. and clin. Med. 1936, 21, 760.
62. *Hetzog, A.*: The phagocytic activity of human leucocytes with special reference to their type and maturity. Amer. J. Pathol. 1938, 14, 595.
63. *Richardson, R.*: Immunity in diabetes: IV Measurements of phagocytic activity in diabetes mellitus. Amer. J. Med. Sci. 1942, 204, 29.

64. *Hanks, J. H.*: Quantitative aspects of phagocytosis as influenced by the number of bacteria and leucocytes. *J. Immunol.* 1940, **38**, 159.
65. *Cottingham, E., and Mills, C. A.*: Influence of environmental temperature and vitamin deficiency upon phagocytic functions. *J. Immun.* 1943, **47**, 493.
66. *Berry, L. J., Leyendecker, A. B., and Spies, T. D.*: Comparative studies of phagocytosis in normal and in anemic blood. *Blood (Suppl.)* 1947, **1**, 98.
67. *Saslaw, S., Doan, Ch. A.*: The role of phagocytosis in resistance, as related — to age of granulocytes following primary and reinfection studies with hemolytic streptococci in macacus rhesus. *J. Lab. and clin. Med.* 1937, **32**, 878.
68. *Jersild, M.*: Phagocytic activities of various types of leucocytes. *Acta med. Scand. (Suppl. 213)* 1948, **131**, 238.
69. *Berry, L. J., and Spies, T. D.*: Phagocytosis. *Medicine* 1949, **28**, 239.
70. *Sandkühler, St., und Wagner, I.*: Über Urethanschäden an Leukozyten. *Dtsche. med. Wschr.* 1949, **29/30**, 912.
71. *Sandkühler, St., und Seitzer, K.*: Funktionelle Agranulozytose. *Schweiz. med. Wschr.* 1952, **5**, 103.
72. *Davies, G. E.*: A method for obtaining accurate and reproducible results in experiments on phagocytosis. *J. Pathol. and Bacteriol.* 1951, **63**, 149.
73. *Seitzer, K., und Sandkühler, St.*: Über die Phagozytosefähigkeit der Lymphozyten. *Dtsch. Arch. klin. Med.* 1951, **198**, 612.
74. *Spain, D. M., Molomut, N., and Haber, A.*: Biological studies on cortisone in mice. *Science* 1950, **112**, 335.
75. *Moeschlin, S., Zurekzoglu, W., und Crabbé, J.*: *Acta haematolog.* (1953), im Druck.

